

# 結合型エストロゲンによる人工塞栓術 - その塞栓 機序に関する実験的研究 : 血管内皮細胞の超微細 構造の変化を中心として -

著者	清水 幸彦
号	1879
発行年	1987
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/20022">http://hdl.handle.net/10097/20022</a>

氏 名（本籍）                      し                      みず                      ゆき                      ひこ  
清                      水                      幸                      彦

学 位 の 種 類                      医                      学                      博                      士

学 位 記 番 号                      医                      第                      1 8 7 9                      号

学位授与年月日                      昭 和   6 2   年   2   月   2 5   日

学位授与の要件                      学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴                      昭 和 5 5 年 3 月  
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目                      結合型エストロゲンによる人工塞栓術  
—その塞栓機序に関する実験的研究：血管内皮細胞の超微細構造の変化を中心として—

（主 査）

論文審査委員   教授 鈴 木   二   郎                      教授 岩 崎 祐 三

教授 山 本 敏 行

# 論文内容要旨

## 目 的

当教室では結合型エストロゲン（Premarin<sup>®</sup>，東洋醸造）を用いた人工塞栓術を開発し，臨床例において有用な結果を得てきている。この結合型エストロゲンによる塞栓術の塞栓機序としては，当教室の長嶺らが動物実験を行い，本剤の動注により微小循環障害が発生することを報告したが，本研究はさらに，この微小循環障害がいかなる機序によって惹起されるのかを究明する目的で行われたものであり，ラット腸間膜を用いた動注モデルを作成し，本剤の動注による血管内皮細胞の変化を，微小循環の変化とともに透過電顕を用いて観察し，さらに本剤による培養血管内皮細胞の変化についても検討した。

## 方 法

1. ラット腸間膜動注モデルを用いた結合型エストロゲンの動注実験：体重 200－250 g の雄ウィスターラット26匹を用い，ウレタン麻酔下（1.0－1.5 g/kg皮下注）に開腹し，腸間膜動脈の分枝により，内径 0.15 mm，外径 0.2 mm のポリエチレンチューブを用いて腸間膜動脈にカニューレーションを行った。次いでこのチューブを自動注入器（テルモ S T C－521）に接続して，薬剤を 1.5 ml/min の速度で動注し，回腸末端部腸間膜窓において，生体顕微鏡（Nikon TMD）を用いて微小循環の変化（sludging，stasis 等）を観察した。結合型エストロゲンは生理食塩水に溶解して 20 mg/ml の濃度としたものを用い，下記のように動注時間により 4 群に分け，各群 5 匹ずつ計 20 匹に本剤の動注を行った。1) 20 秒動注群（結合型エストロゲン総動注量 10 mg，0.5 ml），2) 40 秒動注群（20 mg，1.0 ml），3) 60 秒動注群（30 mg，1.5 ml），4) 80 秒動注群（40 mg，2.0 ml），なお 6 匹を対照群とし，生理食塩水および，本剤の溶媒を動注した。所定の時間で薬剤の動注が終了しだい，ただちに 2 % glutaraldehyde による腸間膜の浸潤固定を行なって血管標本を採取し，透過電顕（日本電子 J E M 100－S）を用いて観察を行った。2. 結合型エストロゲン投与による培養血管内皮細胞の変化の観察：培養細胞として Canine pulmonary arterial endothelial cells（American Type Culture Collection）および Bowman らの手法により採取したラット脳血管内皮細胞を用いた。これらの培養細胞に Eagle's MEM に溶解し，10 mg/ml の濃度とした結合型エストロゲンを接触させ，所定の時間が経過した後，1 % glutaraldehyde による固定を行い，光顕，電顕による形態の変化を観察した。

## 結 果

1. 腸間膜微小循環の変化：対照群，および20秒動注群では血流の変化は認められなかったが，40秒動注群では5匹中2匹に血流のsludgingが認められ，60秒動注群では全例sludgingからstasis，80秒動注群では全例stasisの状態となった。2. 結合型エストロゲン動注による腸間膜血管の変化：結合型エストロゲン20秒動注群では血管内に球状赤血球が出現し，血管内皮細胞の細胞膜の不整化が認められた。血流のsludgingが生じた40秒動注群では，上記の変化に加え，特徴的な核の変化が生じた。すなわち，核膜は比較的保たれているものの，核は膨化して正常な核クロマチンの構造は消失し，核内に電子密度の高い顆粒様，またfilament様の構造が出現した。さらに，一部では細胞膜が断裂し，細胞質の管腔外への流出も認められた。60秒動注群では，微小血管などでは傷害された内皮細胞による管腔の閉塞も認められ，また周囲の平滑筋細胞や線維芽細胞にも同様の変化が及んでいた。80秒動注群では，これらの血管内皮細胞の変化がより高度となり，血管内皮細胞の消失，血小板の凝集なども観察され，血管内には球状赤血球が充満していた。すなわち，結合型エストロゲンの動注により赤血球の球状化が生じ，動注量の増加とともに血管内皮細胞傷害ならびに血流障害が進行してゆく結果が得られた。3. 培養血管内皮細胞の変化：ラット腸間膜の実験と同様の結果が得られた。すなわち，1分では細胞膜の不整化が出現，2分で同様の特徴的な核の変化が生じ，3分ではそれらの変化が高度となり細胞が融解するものも認められたが，細胞内小器官の変化は核の変化に比較して軽微であった。

## 結 論

以上の結果より，結合型エストロゲンを用いた人工塞栓術の塞栓機序として，血管内皮細胞傷害，赤血球の球状化が考えられた。すなわち，血管内皮細胞傷害の結果，内皮細胞の抗血栓作用は消失して血栓形成が促進され，赤血球の球状化は，血流速度の低下をきたして血栓形成を助長すると考えられた。さらに血管内皮細胞の核の変化は特徴的であり，結合型エストロゲンが核クロマチンに作用する可能性が示唆された。しかし，本剤の動注による細胞傷害ならびに赤血球の球状化の機序については，今後の検討を要する。

## 審 査 結 果 の 要 旨

我々の教室で行なっている結合型エストロゲンを用いた人工塞栓術は、固体の塞栓物質を用いる従来の塞栓術とは異なり、塞栓物質である結合型エストロゲンが液体であるため、固体の塞栓物質では閉塞し得ない微小な血管までも閉塞し得る事を特徴としており、臨床上血管病変や腫瘍等の応用に良好な結果を得ている。そもそもエストロゲンを塞栓物質として用いるようになったのは、当教室で行なった慢性硬膜下血腫とエストロゲンの研究に端を発する。その際、エストロゲン投与によりラットの硬膜に循環障害が発生したため、これを用いて塞栓術ができないかと考え、水溶性エストロゲン製剤としては唯一のものである結合型エストロゲンを用いて塞栓術を開発したのであるが、その塞栓機序については未だ不明の点が多い。当教室では既に結合型エストロゲンの動注により微小循環障害が発生することを報告したが、本研究はそれに引続き、結合型エストロゲンによる塞栓術の機序を解明する目的で行なわれた。その結果、結合型エストロゲンの動注により、血管内皮細胞傷害ならびに球状赤血球が発生することを明らかにした。これらの変化が何故生じるのかという点に関しては、今後の研究を待たなければならないが、結合型エストロゲンによる塞栓術の機序を解明するにあたり、重要な結果と考えられる。エストロゲンは生殖器官に対する作用ばかりでなく、心血管に対する作用も有し、動脈硬化の成因についても関心が持たれている物質であるが、結合型エストロゲンを人工塞栓術に用いること、またこれによる動物実験は当教室独自のものであり、本研究で証明した結合型エストロゲンの動注による血管内皮細胞傷害の発生及び赤血球の球状化という結果は他に報告がなく、本研究は結合型エストロゲンを用いた塞栓術の機序解明に貢献すると共に、結合型エストロゲンの作用として新しい知見を加えたものであり、博士論文に値すると考える。